



Содержание вДНК в семенной плазме петухов как потенциальный биомаркер жизнеспособности сперматозоидов

© 2024. А. А. Курочкин ✉, Т. И. Кузьмина, А. О. Притужалова

Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста», г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

Поиск биомаркеров, имеющих ранний прогностический признак и определяющих функциональный статус мужских гамет *Gallus Gallus*, является перспективным направлением повышения качественных показателей эякулятов и их репродуктивных характеристик. В условиях снижения репродуктивных показателей по причине селекции племенной птицы, направленной на улучшение хозяйственно полезных признаков, данный подход к отбору самцов по качеству их спермопродукции позволит вести оценку спермы в короткие сроки и выявлять потенциально лучших производителей на ранних этапах. В исследовании рассматривается возможность использования вДНК как потенциального неинвазивного биомаркера, определяющего качественные показатели нативной спермы петухов. Выявлены достоверные корреляционные связи между содержанием вДНК и долей клеток с поврежденной плазматической мембраной ($r = 0,35, p < 0,05$), что свидетельствует о возможной связи данного биомаркера с некротическими и апоптотическими процессами в клетках. Коэффициент вариации показателя вДНК составил 30,28 %, что предполагает возможность использования предложенного биомаркера (концентрация вДНК в семенной жидкости *Gallus Gallus*) в качестве предиктивного прогностического критерия оценки качества мужских гамет. Установлены достоверные корреляционные связи ($r = 0,51, p < 0,05$) между долей клеток, подверженных окислительному стрессу, долей клеток с поврежденной плазматической мембраной и высокой митохондриальной активностью, что свидетельствует о негативном влиянии активных форм кислорода на целостность плазматической мембраны и взаимосвязь повышенной генерации активных форм кислорода с функционированием митохондрий. Основываясь на анализе полученных в исследовании результатов, показатель «содержание вДНК в семенной жидкости» предлагаем рассматривать как превентивный неинвазивный биомаркер функционального состояния мужской гаметы *Gallus Gallus*.

Ключевые слова: *Gallus gallus domesticus*, митохондрии, активные формы кислорода, апоптоз, гаметы

Благодарности: работа выполнена при поддержке Минобрнауки РФ в рамках Государственного задания ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста» (тема НИОКТР 124020200127-7).

Авторы благодарят рецензентов за их вклад в экспертную оценку этой работы.

Конфликт интересов: авторы заявили об отсутствии конфликта интересов.

Для цитирования: Курочкин А. А., Кузьмина Т. И., Притужалова А. О. Содержание вДНК в семенной плазме петухов как потенциальный биомаркер жизнеспособности сперматозоидов. *Аграрная наука Евро-Северо-Востока*. 2024;25(5):899–905. DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2024.25.5.899-905>

Поступила: 04.06.2024

Принята к публикации: 26.09.2024

Опубликована онлайн: 30.10.2024

Content of exDNA in rooster's seminal plasma as a potential biomarker of sperm viability

© 2024. Anton A. Kurochkin ✉, Tatyana I. Kuzmina, Anna O. Prituzhalova

All-Russian Research Institute of Genetics and Breeding of Farm Animals – Branch of the Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst, Saint Petersburg, Russian Federation

Searching biomarkers, that have an early prognostic trait and determinate functional status of male gametes *Gallus Gallus* is a promising direction for improving ejaculate's quality reproductive characteristics. In context of a decreasing reproductive performance due to breeding selection of birds aimed to improving economically useful traits, this approach to selecting males, based on their sperm quality production will make it possible to evaluate sperm in a short time and identify potentially the best producers at early stages. The study determined possibility of using exDNA as a potential biomarker that determines quality indicators of native sperm obtained from roosters. Significant correlations were revealed between exDNA and proportion of cells with damaged plasma membrane ($r = 0.35, p < 0.05$), which indicates a possible connection of this biomarker with necrotic and apoptotic processes occurring in cells. Variation coefficient of exDNA indicator was 30.28 %, demonstrating the possibility of using the proposed biomarker (exDNA concentration in the seminal fluid of *Gallus Gallus*) as a predictive criterion for assessing quality of male gametes. Significant correlations ($r = 0.51, p < 0.05$) were established between proportion of cells exposed to oxidative stress, proportion of cells with damaged plasma membrane and high mitochondrial activity, which indicates negative impact of reactive oxygen species on the plasma membrane integrity and relation-

ship increased generation of reactive oxygen species with functional status of mitochondria. On the basis of the analysis of research results, the indicator "exDNA content in seminal fluid" should be considered as a preventive non-invasive biomarker of the functional state of male gamete Gallus Gallus.

Keywords: *Gallus Gallus domesticus, mitochondria, reactive oxygen species, apoptosis, gametes*

Acknowledgments: the research was carried out under the financial support of the Ministry of Science and Higher Education, of the Russian Federation within the state assignment of the Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst (theme НИОКТР 124020200127-7).

The authors thank the reviewers for their contribution to the expert evaluation of this work.

Conflict of interest: the authors has stated that there is no conflict of interest.

For citation: Kurochkin A. A., Kuzmina T. I., Prituzhalova A. O. Content of exDNA in rooster's seminal plasma as a potential biomarker of sperm viability. *Agrarnaya nauka Evro-Severo-Vostoka* = Agricultural Science Euro-North-East. 2024;25(5):899–905. (In Russ.). DOI: <https://doi.org/10.30766/2072-9081.2024.25.5.899-905>

Received: 04.06.2024

Accepted for publication: 26.09.2024

Published online: 30.10.2024

В современной птицеводческой отрасли искусственное осеменение наряду с клеточным содержанием птицы нашло широкое применение и составляет единый технологический процесс, позволяющий достигнуть более высокой репродуктивной эффективности самцов, повысить качество селекционной работы путем контроля за происхождением птицы, снизить затраты на содержание поголовья за счет изменения полового соотношения в популяции и более эффективного использования промышленных площадей. Основная цель искусственного осеменения увеличить популяцию за счет эффективного производства большого количества суточных цыплят в относительно короткие сроки [1]. Однако генетическая селекция племенной птицы, ориентированная в первую очередь на улучшение хозяйственно значимых признаков при пониженном коэффициенте конверсии корма, приводит к снижению репродуктивных показателей. Учитывая тот факт, что поголовье самцов в разы меньше поголовья самок в популяции промышленной птицы, влияние их репродуктивных качеств значительно выше [2].

Поиск биомаркеров, имеющих ранний прогностический признак и определяющих функциональный статус мужских гамет *Gallus Gallus*, является перспективным направлением повышения качественных показателей эякулятов и их репродуктивных характеристик. Данный подход к отбору самцов по качеству их спермопродукции позволит вести оценку спермы в короткие сроки и выявлять потенциально лучших производителей на ранних этапах.

В качестве индикаторов фертильности спермы петухов могут использоваться такие клеточные показатели, как фрагментация хроматина, митохондриальная активность, целостность плазматических мембран клеток, содержание внутриклеточных ионов кальция (Ca^{2+})

и активных форм кислорода (АФК). Негативное влияние окислительного стресса на сперматозоиды петухов может являться одним из основных факторов, вызывающих структурные изменения в клетках. Данные соединения затрагивают ряд важных для сперматозоида органелл. Содержание свободных радикалов и перекисей в количествах, превышающих антиоксидантную емкость клеток, способно индуцировать повреждение белков, перекисное окисление липидов плазматических мембран, митохондриальную дисфункцию и повреждение целостности структуры молекул ДНК [3, 4]

Однако оценка данных показателей может быть осложнена проведением в лабораторных условиях с использованием дорогостоящего оборудования. С другой стороны, изучение составляющих семенной плазмы может косвенно указать на функциональный статус клеток, поскольку она модулирует функцию сперматозоидов в процессе воспроизводства [5].

Химический и биохимический состав семенной плазмы птиц был предметом ряда исследований. Полученные данные определили взаимосвязь между различными составляющими семенной плазмы, такими как содержание электролитов (Na^+ , K^+ , Ca^{2+} , Cl^-), аминокислот и белков, липидов и фосфолипидов и их взаимосвязи с клеточными показателями спермы. Недавно в семенной плазме человека были идентифицированы бесклеточные нуклеиновые кислоты – ДНК, длинные одноцепочечные РНК и малые РНК – микроРНК и пиРНК [6, 7, 8]. Определение концентрации внеклеточной ДНК (внДНК) может быть использовано в качестве неинвазивного метода определения качественных показателей спермы.

Различия в размере обнаруженной внДНК, ее эпигенетике, полиморфизме приводят к различным отклонениям в фертильности спермы мужчин [9]. В их числе: взаимосвязь между

содержанием вДНК и оксидативным стрессом [10]; корреляция между содержанием низкомолекулярной вДНК и прогрессивной подвижностью, отклонения в прохождении этапов процесса капацитации спермы [11]. Данный биомаркер (вДНК) также используется в исследованиях женской фертильности. Профилирование вДНК, выделенной из фолликулярной жидкости, используется в качестве неинвазивного и простого метода определения клинического исхода беременности. вДНК представляет собой фрагменты ДНК (из ядер клеток и митохондрий), высвобождаемая посредством апоптоза, некроза и других механизмов активного высвобождения [12]. Исследования, описывающие взаимосвязь между отклонениями в митохондриальной активности клеток и содержанием вДНК, на данный момент как в гуманитарной медицине, так и в животноводстве отсутствуют.

Тем не менее, при наличии ряда исследований вДНК в связи с мужской фертильностью у человека, работы в данном направлении у сельскохозяйственных животных и птиц немногочисленны и носят фрагментарный характер. В нашем исследовании мы определили возможность использования вДНК как потенциального биомаркера, определяющего качественные показатели нативной спермы петухов.

Цель исследований – оценить перспективы использования нового биомаркера (вДНК) в качестве прогностического признака качественных показателей эякулятов петухов-производителей.

Научная новизна – впервые оценено содержание внеклеточной ДНК в семенной плазме петухов в связи с показателями жизнеспособности мужских гамет, морфофункциональной активностью, генерацией внутриклеточных АФК и функциональным статусом митохондрий.

Материал и методы. Исследование проводили на базе ЦКП «Генетическая коллекция редких и исчезающих пород кур» Всероссийского НИИ генетики и разведения сельскохозяйственных животных. Объектом исследования служили петухи породы Царско-сельская ($n = 20$) в возрасте 36 недель. Петухи содержались в индивидуальных клетках. Кормление, поение и световой режим экспериментальное поголовье получало в соответствии с возрастными нормами.

Сперму собирали методом абдоминального массажа (Берроуз и Куинн (Burrows and

Quinn, 1935), в пенициллиновые флаконы, дважды в неделю. Общую подвижность оценивали на микроскопе Axio Imager A1 (Carl Zeiss Microscopy, Germany), увел. 100х. Концентрацию внеклеточной ДНК в семенной плазме нативных эякулятов определяли наборами QuDye dsDNA HS Kit (Lumiprobe, Россия) с помощью флуориметра Qubit 4 (Thermo Scientific, США).

Оценка таких клеточных показателей, как целостность плазматической мембраны, митохондриальный потенциал и генерация клетками перекиси водорода (H_2O_2) в образцах индивидуальных эякулятах петухов проходила с использованием флуоресцентных красителей. Флуоресценцию клеток анализировали на проточном цитометре CytoFLEX (Beckman Coulter Life Sciences, США). В каждом образце оценивали не менее 10000 событий. Для анализа данных использовали программное обеспечение CytExpert, Version 2.4.0.28 (Beckman Coulter, Inc.).

Содержание внутриклеточного H_2O_2 в клетках определяли с помощью 2',7'-дихлорфлуоресцеин диацетат (DCFH-DA), для этого клетки дважды отмывали PBS (1200 об./мин, 7 мин) и добавляли в конечной концентрации 5 мкМ/мл с последующей инкубацией в течение 20 мин. Затем осадок дважды отмывали от остатков флуорохрома (1200 об./мин., 7 мин). При анализе флуоресценции на проточном цитометре выделяли две популяции клеток – с высоким и низким содержанием пероксида водорода. Определение доли мертвых клеток проводили с помощью флуорохрома пропидия йодид (PI) и флуорохрома DAPI. Клетки анализировали сразу после добавления красителей к исследуемым образцам до конечной концентрации 5 мкг/мл. Активность митохондрий сперматозоидов петухов оценивали с помощью флуоресцентного красителя – перхлората этилового эфира тетраметилродамина (TMRE). Образцы клеток дважды отмывали в PBS с последующим центрифугированием 1200 об./мин. в течение 7 мин. Осадок клеток ресуспендировали в PBS и инкубировали с TMRE в конечной концентрации 1 мкМ в течение 30 мин при $t = 38,5^\circ C$. После инкубации клетки отмывали от остатков флуорохрома.

Результаты и их обсуждение. При оценке нативных эякулятов петухов породы Царскосельская, общая подвижность находилась в пределах от 83,33 до 90,0 % (табл. 1).

Установлена достоверная корреляция между долей клеток с высокой митохондриальной активностью и общей подвижностью клеток ($r = 0,48$, $p < 0,05$), что подтверждается иссле-

дованиями, детерминирующими взаимосвязь функционирования митохондрий, содержания в клетках АТФ и кинетическим аппаратом сперматозоидов [13].

Таблица 1 – Жизнеспособность сперматозоидов и качественные показатели нативных эякулятов петухов /
Table 1 – Sperm viability and quality indicators of rooster's native ejaculates

<i>№ Петуха /</i> <i>Rooster's</i> <i>Number</i>	<i>внДНК, нг/мл /</i> <i>exDNA, ng/ml</i>	<i>Объем эякулята, мл /</i> <i>Ejaculate volume, ml</i>	<i>Общая подвижность, % /</i> <i>General mobility, %</i>	<i>PI+*, %</i>
1	2,68±0,12	0,77±0,09	85,00±0	24,40±3,56
2	2,58±0,92	0,90±0,12	88,33±1,67	15,93±5,94
3	2,34±0,30	0,97±0,18	85,00±0	37,56±20,02
4	1,41±0,14	0,53±0,09	85,00±0	23,73±4,26
5	1,53±0,11	0,77±0,03	85,00±0	17,94±3,17
6	1,86±0,24	1,10±0,25	86,67±1,67	28,57±16,70
7	2,44±0,44	0,63±0,09	83,33±1,67	32,94±11,70
8	1,37±0,08	0,93±0,09	90,00±0	25,14±2,98
9	1,29±0,07	0,70±0,06	85,00±0	22,93±6,36
10	1,35±0,12	1,43±0,09	90,00±0	28,47±17,19
11	1,14±0,03	1,03±0,15	83,33±2,50	23,58±6,63
12	1,06±0,09	0,33±0,15	83,33±2,50	17,86±3,13
13	2,18±0,50	0,53±0,05	85,00±0	19,80±4,69
14	2,20±0,04	1,07±0,20	86,67±2,50	20,20±1,27
15	2,40±0,75	1,00±0,05	85,00±0	23,59±2,94
16	1,66±0,11	0,63±0,10	85,00±0	24,34±7,25
17	1,63±0,06	0,60±0,15	85,00±0	14,90±2,47
18	1,59±0,35	1,07±0,20	85,00±2,50	24,32±3,33
19	1,68±0,16	0,97±0,15	85,00±2,50	26,29±2,60
20	0,94±0,04	0,80±0	85,00±0	18,62±4,64

Примечания: данные представлены в виде средних величин, ± ст. ошибка. «PI+» – доля клеток с поврежденной плазматической мембраной /

Notes: data are presented as mean values, ± standard error. “PI+” – proportion of cells with damaged plasma membrane

Также, установлены достоверные корреляционные связи ($r = 0,51$, $p < 0,05$) между долей клеток, подверженных оксидативному стрессу, долей клеток с поврежденной плазматической мембраной и высокой митохондриальной активностью, что говорит о негативном влиянии активных форм кислорода (АФК) на целостность плазматической мембраны и взаимосвязь повышенной генерации АФК с функционированием митохондрий. Данный факт может также объясняться тем, что увеличение функции митохондрий и потока электронов в цепи их переноса приводит к увеличению пассивной утечки электронов, выработке АФК и окислительному стрессу,

сопровожающему повышению активности митохондрий [14].

Большая часть работ, посвященная определению возможности использования содержания внДНК в семенной плазме как предиктивного и неинвазивного биомаркера, определяющего как качественные показатели, так и нарушения сперматогенеза опубликованы в гуманитарной медицине. В исследованиях авторов Чоу и др. (Chou et al.) на сперме человека внДНК была связана с качественными показателями спермы, такими как скорость движения клеток и их морфология [15]. Авторами Х. Г. Ли и др. (H. G. Li et al.) было показано, что уровень внДНК выше в семенной

плазме пациентов с азооспермией, чем у пациентов с нормозооспермией [16]. В области воспроизводства сельскохозяйственных животных подобные исследования немногочисленны, что же касается птиц, то подобные исследования пока не проводились.

При исследовании 20 индивидуальных эякулятов спермы петухов мы определили содержание внеклеточной ДНК. Оно суще-

ственно отличалось между образцами и находилось в пределах от 0,94 до 2,68 нг/мл (табл. 1), но наблюдалась высокая повторяемость результатов, характеризующаяся небольшим доверительным интервалом (табл. 2). Достоверной корреляционной связи данного показателя с объемом эякулятов обнаружено не было, поэтому можно сказать, что данный показатель не зависит от количества клеток в эякуляте.

Таблица 2 – Митохондриальная активность и генерация клетками внутриклеточных активных форм кислорода (H₂O₂), % /

Table 2 – Mitochondrial activity and cell generation of intracellular reactive oxygen species (H₂O₂), %

<i>№ Петуха / Rooster's Number</i>	<i>TMRE+*</i>	<i>TMRE+/DAPI+*</i>	<i>PI-/ROS+*</i>
1	75,38±8,09	11,61±1,29	17,39±2,61
2	79,06±8,98	12,89±0,44	14,14±9,16
3	67,83±4,07	7,62±1,66	9,58±4,62
4	70,94±3,23	14,04±2,06	16,40±1,96
5	79,56±10,29	12,74±0,74	8,28±2,68
6	79,71±4,89	9,29±1,51	11,29±2,27
7	79,45±0,98	8,92±0,53	13,31±4,05
8	77,08±4,11	12,90±2,67	18,36±6,65
9	78,47±0,16	20,41±1,53	17,46±3,01
10	85,05±1,78	25,78±3,78	16,93±4,60
11	68,80±2,02	6,25±1,01	17,95±2,94
12	71,46±4,70	5,74±1,28	20,90±9,45
13	74,74±4,00	6,7±0,59	11,44±2,89
14	73,23±2,58	4,56±0,95	24,11±12,35
15	77,59±3,12	6,96±1,12	15,77±4,36
16	74,95±2,54	3,7±0,59	10,86±1,82
17	79,52±5,34	2,76±0,90	13,61±5,36
18	70,70±4,74	6,92±1,23	15,77±5,39
19	68,00±1,78	3,44±0,51	17,17±6,74
20	78,71±4,30	6,57±1,03	7,61±3,39

Примечания: Данные представлены в виде средних величин, ± ст. ошибка. *«TMRE+» – доля клеток с высокой митохондриальной активностью, «TMRE+/DAPI+» – высокая митохондриальная активность в клетках с поврежденной плазматической мембраной, «PI-/ROS+» – генерация внутриклеточных активных форм кислорода (H₂O₂) клетками с интактной плазматической мембраной /

Notes: Data are presented as mean values, ± standard error. *"TMRE+" – proportion of cells with high mitochondrial activity, "TMRE+/DAPI+" – high mitochondrial activity in cells with damaged plasma membrane, "PI-/ROS+" – generation of intracellular reactive oxygen species (H₂O₂) by cells with intact plasma membrane

В нашем исследовании выявлены достоверные корреляционные связи между вДНК и долей клеток с поврежденной плазматической мембраной ($r = 0,35$, $p < 0,05$), что свидетельствует о возможной связи данного биомаркера с некротическими и апоптотическими процессами, происходящими в сперма-

тозоидах птиц. Учитывая коэффициент вариации данного показателя (30,28 %), можно предположить о перспективности анализа содержания вДНК в семенной плазме петухов как потенциального биомаркера оценки качества эякулятов.

Закключение. Выявлены достоверные корреляционные связи между вДНК и долей клеток с поврежденной плазматической мембраной ($r = 0,35$, $p < 0,05$), что свидетельствует о возможной связи данного биомаркера с некротическими и апоптотическими процессами, происходящими в клетках. Коэффициент вариации показателя вДНК составил 30,28 %, показывая возможность использования предлагаемого биомаркера (концентрация вДНК в семенной жидкости *Gallus Gallus*) в качестве предиктивного прогностического критерия оценки качества мужских гамет.

Установлены достоверные корреляционные связи ($r = 0,51$, $p < 0,05$) между долей клеток, подверженных окислительному стрессу, долей клеток с поврежденной плазматической мембраной и высокой митохондриальной

активностью, что говорит о негативном влиянии активных форм кислорода на целостность плазматической мембраны и взаимосвязь повышенной генерации АФК с функционированием митохондрий.

Установлена достоверная корреляция между долей клеток с высокой митохондриальной активностью и общей подвижностью клеток ($r = 0,48$, $p < 0,05$), что свидетельствует о взаимосвязи функциональной активности митохондрий, содержания в клетках АТФ и функционирования кинетического аппарата сперматозоидов. Полученные данные позволяют рассматривать содержание вДНК в семенной жидкости петухов как превентивный неинвазивный биомаркер качества сперматозоидов *Gallus Gallus*.

References

1. Udrayana S. B., Kasianto K., Iswati I., Bintari I. G. Evaluating sperm quality characteristics obtained through the female teaser method in native chicken breeds. *Livestock and Animal Research*. 2023;21(3):127–135. DOI: <https://doi.org/10.20961/lar.v21i3.66495>
2. Wolc A., Arango J., Settar P., Fulton J. E., O'Sullivan N. P., Dekkers J. C. M. Genetics of male reproductive performance in White Leghorns. *Poultry Science*. 2019;98(7):2729–2733. DOI: <https://doi.org/10.3382/ps/pez077>
3. Surai P. F., Kutz E., Wishart G. J., Noble R. C., Speake B. K. The relationship between the dietary provision of alpha-tocopherol and the concentration of this vitamin in the semen of chicken: effects on lipid composition and susceptibility to peroxidation. *Journal of reproduction and fertility*. 1997;110(1):47–51. DOI: <https://doi.org/10.1530/jrf.0.1100047>
4. Khan R. Antioxidant and poultry semen quality. *World's Poultry Science Journal*. 2011;67(2):297–308. DOI: <https://doi.org/10.1017/S0043933911000316>
5. Santiago-Moreno J., Bernal B., Pérez-Cerezales S., Castaño C., Toledano-Díaz A., Estes M. C., et al. Seminal plasma amino acid profile in different breeds of chicken: Role of seminal plasma on sperm cryoresistance. *Plos one*. 2019;14(1):e0209910. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0209910>
6. Zagorskin M. V., Davis R. E., Mukha D. V. Double Stranded RNA in Human Seminal Plasma. *Frontiers in genetics*. 2017;8:00154. DOI: <https://doi.org/10.3389/fgene.2017.00154>
7. Li H., Huang S. Y., Zhou H., Liao A. H., Xiong C. L. Quick recovery and characterization of cell-free DNA in seminal plasma of normozoospermia and azoospermia: implications for non-invasive genetic utilities. *Asian journal of andrology*. 2009;11(6):703–709. DOI: <https://doi.org/10.1038/aja.2009.65>
8. Huang S., Li H., Ding X., Xiong C. Presence and characterization of cell-free seminal RNA in healthy individuals: implications for noninvasive disease diagnosis and gene expression studies of the male reproductive system. *Clinical Chemistry*. 2009;55(11):1967–1976. DOI: <https://doi.org/10.1373/clinchem.2009.131128>
9. Di Pizio P., Celton N., Menoud P. A., Belloc S., Cohen Bacrie M., Belhadri-Mansouri N., et al. Seminal cell-free DNA and sperm characteristic's: An added biomarker for male infertility investigation. *Andrologia*. 2020;53(1). DOI: <https://doi.org/10.1111/and.13822>
10. Costa F., Barbisan F., Assmann C. E., Araújo N. K. F., de Oliveira A. R., Signori J. P., et al. Seminal cell-free DNA levels measured by PicoGreen fluorochrome are associated with sperm fertility criteria. *Zygote*. 2017;25(2):111–119. DOI: <https://doi.org/10.1017/s0967199416000307>
11. Chou J. S., Jacobson J. D., Patton W. C., King A., Chan P. J. Modified isocratic capillary electrophoresis detection of cell-free DNA in semen. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*. 2004;21:397–400. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10815-004-7527-6>
12. Qasemi M., Mahdian R., Amidi F. Cell-free DNA discoveries in human reproductive medicine: providing a new tool for biomarker and genetic assays in ART. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2021;38:277–288. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10815-020-02038-4>
13. Froman D. P., Kirby J. D. Sperm Mobility: Phenotype in Roosters (*Gallus domesticus*) Determined by Mitochondrial Function. *Biology of reproduction*. 2005;72(3):562–567. DOI: <https://doi.org/10.1095/biolreprod.104.035113>

14. Meyers S., Bulkeley E., Foutouhi A. Sperm mitochondrial regulation in motility and fertility in horses. *Reproduction in Domestic Animals*. 2019;54(S3):22–28. DOI: <https://doi.org/10.1111/rda.13461>
15. Chou J. S., Jacobson J. D., Patton W. C., King A., Chan P. J. Modified Isocratic capillary electrophoresis detection of cell-free DNA in semen. *Journal of assisted reproduction and genetics*. 2004;21:397–400. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10815-004-7527-6>
16. Li H. G., Huang S. Y., Zhou H., Liao A. H., Xiong C. L. Quick recovery and characterization of cell-free DNA in seminal plasma of normozoospermia and azoospermia: implications for non-invasive genetic utilities. *Asian Journal of Andrology*. 2009;11(6):703–709. DOI: <https://doi.org/10.1038/aja.2009.65>

Сведения об авторах

✉ **Курочкин Антон Алексеевич**, младший научный сотрудник лаборатории биологии развития, Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста», Московское шоссе, 55а, п. Тярлево, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, 196625, e-mail: spbvniigen@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4430-4770>, e-mail: kurochkin.anton.66@gmail.com

Кузьмина Татьяна Ивановна, доктор биол. наук, профессор, главный научный сотрудник, заведующая лабораторией биологии развития, Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста», Московское шоссе, 55а, п. Тярлево, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, 196625, e-mail: spbvniigen@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4218-6080>

Пritужалова Анна Олеговна, младший научный сотрудник лаборатории биологии развития, Всероссийский научно-исследовательский институт генетики и разведения сельскохозяйственных животных – филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр животноводства – ВИЖ имени академика Л. К. Эрнста», Московское шоссе, 55а, п. Тярлево, г. Санкт-Петербург, Российская Федерация, 196625, e-mail: spbvniigen@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2865-9582>

Information about the authors

✉ **Anton A. Kurochkin**, junior researcher, the Laboratory of Developmental Biology, All-Russian Research Institute of Genetics and Breeding of Farm Animals – Branch of the Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst, Moscow highway, 55a, village Tyarlevo, Saint Petersburg, Russian Federation, 196625, e-mail: spbvniigen@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4430-4770>, e-mail: kurochkin.anton.66@gmail.com

Tatyana I. Kuzmina, DSc in Biological Science, professor, chief researcher, Head of the Laboratory of Developmental Biology, All-Russian Research Institute of Genetics and Breeding of Farm Animals – Branch of the Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst, Moscow highway, 55a, village Tyarlevo, Saint Petersburg, Russian Federation, 196625, e-mail: spbvniigen@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4218-6080>

Anna O. Prituzhalova, junior researcher, the Laboratory of Developmental Biology, All-Russian Research Institute of Genetics and Breeding of Farm Animals – Branch of the Federal Research Center for Animal Husbandry named after Academy Member L. K. Ernst, Moscow highway, 55a, village Tyarlevo, Saint Petersburg, Russian Federation, 196625, e-mail: spbvniigen@mail.ru, ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2865-9582>

✉ – Для контактов / Corresponding author